SNI 01-2333-1991

Standar Nasional Indonesia

Penentuan Homogenisasi Contoh

ICS 67.120.30

Badan Standardisasi Nasional BSN

Penentuan Homogenisasi Contoh

Pendahuluan

Semua contoh harus diperiksa dengan menggunakan proses pengujian yang tepat secepatnya setelah contoh tiba di Laboratorium Teknik, teknik aseptis harus dilaksanakan pada setiap langkah penanganan contoh. Contoh beku harus dilelehkan secepatnya, dan sebaiknya pada temperatur refrigerator atau pelelehan dengan menaikkan suhu yang dilakukan secara hati-hati untuk menghindari terjadinya kerusakan atau bertambahnya mikroorganisme dalam contoh (lebih rendah dari 45°C selama kurang lebih 15 menit). Jika pelelahan dilakukan dengan peningkatan suhu sebaiknya contoh selalu mengalami agitasi. Water bath dengan suhu yang terkontrol sebaiknya digunakan untuk melelehkan contoh dengan cepat.

Contoh yang kering atau yang berbentuk cairan harus diaduk hingga homogen sebelum digunakan untuk sampling (pengambilan contoh). Penggunaan alat-alat yang steril disarankan untuk mengaduk dan membuang bagian-bagian contoh yang tidak diperlukan. Tergantung dari jenis contoh, contoh dapat ditimbang langsung ke dalam wadah inkubasi atau harus dihancurkan dulu dalam blender untuk kemudian dipindahkan ke dalam wadah khusus yang cocok untuk inkubasi.

Ukuran dari contoh tergantung dari tingkat homogenitas bahan makanan. Umumnya diperlukan 25 g. Akan tetapi pengalaman menunjukkan bahwa untuk mikroorganisme tertentu sebaiknya digunakan pengenceran yang lebih besar (1 : 25 untuk *Shigella*).

Pada umumnya, homogenisasi dari contoh dapat dilakukan dengan menggunakan blender untuk pengujian mikrobiologi. Waktu yang digunakan dan kecepatannya dapat berkisar antara 15 detik pada 8.00 - 9.00 rpm, selama 2 menit pada 23.000 rpm, tergantung dari jenis bahan makanan. Lebih dari 2 menit dengan kecepatan tinggi dapat menimbulkan panas yang dapat menyebabkan rusaknya mikro organisme. Sebaiknya penghancuran dilakukan dalam waktu yang sangat singkat dan kecepatan yang sangat rendah untuk menghasilkan tingkat homogenisasi yang terbaik.

1 Peralatan

1.1 *Mechanical blender*.

Terdapat banyak sekali jenis blender. Akan tetapi sebaiknya digunakan blender yang mempunyai beberapa kecepatan atau satu tingkat kecepatan saja dengan rata-rata kecepatan 23.000 rpm; dengan adanya unit kontrol sehingga dimungkinkan penggunaan kecepatan awal rendah yaitu sebesar 8.000 — 10.000 rpm.

1.2 Wadah blender dari gelas atau metal dengan kapasitas 500 - 1.000 ml dengan tutup, dan tahan terhadap suhu autoclave. Satu wadah steril (sterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit) untuk setiap sediaan yang akan dianalisis.

1.3 Timbang dengan kapasitas 2.000 gam dan sensitifitas 0,1 g.

1.4 Beaker dengan ukuran 250 ml dengan menggunakan tutup aluminium foil yang digunakan sebelum sterilisasi (untuk menimbang contoh). Satu beaker digunakan satu contoh bahan makanan.

1.5 Peralatan untuk penyiapan contoh: pisau, garpu, gunting, sendok makan, alat penjapit, alat sterilisasi dan peralatan lain yang tahan terhadap suhu sterilisasi.

1.6 Pipet (steril) berukuran 1 ml, 10 ml dan lain-lain.

1.7 Phosphat buffered dilution water dan larutan peptone yang telah disterilisasi yang masing-masing digunakan untuk sediaan yang terdiri dari :

a) 450 ± 4 ml dalam labu atau botol dan atau,

b) 90 atau 99 ± 1 ml dalam botol pengenceran atau wadah sejenis. Reaksi terakhir setelah sterilisasi harus mencapai pH 7,0 ± 0,1.

2 Prosedur

2.1 Apabila contoh dalam keadaan beku, lelehkan dalam wadah aslinya (atau dalam wadah pada saat dia diterima di Laboratorium) selama < 18 jam pada suhu 25°C . Jika contoh dapat dengan mudah dihomogenkan, pelelehan tidak diperlukan.

2.2 Letakkan wadah blender pada timbangan, kemudian timbang secara aseptis ke dalamnya 50± 0,1 g, bahan makanan sediaan.

2.3 Apabila bahan makanan di dalam pak sangat tidak homogen (misalnya makanan malam beku/frozen dinner), ambil 25 g contoh dari seluruh bahan makanan tersebut atau analisa setiap porsi makanan yang berbeda-beda, tergantung dari tujuan pengujian; yang terakhir lebih disarankan. Apabila keseluruhan contoh berjumlah kurang dari 50 g, timbang bagian dari bahan makanan tersebut yang setara dengan setengah contoh dan tambahkan larutan pengencer sampai dihasilkan larutan pengenceran 10^{-1}. Total volume dalam blender harus menutupi alat pemotong yang terdapat di dalamnya.

2.4 Dalam wadah blender yang berisi 25 g contoh tambahkan 225 mm phosphat buffered dilution water atau larutan peptone dan blender selama beberapa detik dengan kecepatan rendah (8000 - 10.000 rpm) kemudian putar pada kecepatan tinggi dan biarkan 2 menit. (Waktu yang lebih lama akan menyebabkan timbulnya panas yang dapat mengakibatkan matinya organisme). Ini akan menghasilkan pengenceran 10^{-1}.

2.5 Tidak lebih dari 15 menit dari waktu diblender, buat larutan dengan pengenceran lainnya.

2.6 Siapkan semua pengenceran dengan menggunakan 90 ml larutan pengenceran steril dengan menambahkan 10 ml larutan sebelumnya. Kocok hingga homogen.

2.7 Gunakan pipet untuk memindahkan larutan tersebut secara tepat. Jangan menggunakan pipet dengan ukuran 10% dari total volume pipet. Contoh, untuk memindahkan 1 ml jangan menggunakan pipet dengan ukuran lebih dari 10 ml; untuk memindahkan 0,1 ml jangan menggunakan pipet dengan ukuran lebih dari 1 ml.